

⑫ 公開特許公報(A)

昭63-3249

⑮ Int. Cl.<sup>4</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和63年(1988)1月8日

G 01 N 27/30  
27/46

J-7363-2G  
M-7363-2G

審査請求 未請求 発明の数 1 (全4頁)

⑬ 発明の名称 バイオセンサ

⑰ 特 願 昭61-146392

⑱ 出 願 昭61(1986)6月23日

⑲ 発 明 者	南 海 史 朗	大阪府門真市大字門真1006番地	松下電器産業株式会社内
⑲ 発 明 者	河 栗 真 理 子	大阪府門真市大字門真1006番地	松下電器産業株式会社内
⑲ 発 明 者	飯 島 孝 志	大阪府門真市大字門真1006番地	松下電器産業株式会社内
⑲ 出 願 人	松下電器産業株式会社	大阪府門真市大字門真1006番地	
⑲ 代 理 人	弁理士 中尾 敏男	外1名	

明 細 書

1、発明の名称

バイオセンサ

2、特許請求の範囲

- (1) 少なくとも測定極と対極からなる電極系を設けた絶縁性の基板を備え、酵素と電子受容体と試料液の反応に際しての物質濃度変化を電気化学的に前記電極系で検知し前記試料液の基質濃度を測定するバイオセンサにおいて、前記電極系の少なくとも測定極の表面に予め蛋白質を吸着してこの電極系を酸化還元酵素および電子受容体を担持した多孔体で覆い、多孔体を電極系および前記基板とともに一体化したことを特徴とするバイオセンサ。
- (2) 電極系が測定極、対極および参照極から構成されている特許請求の範囲第1項記載のバイオセンサ。
- (3) 電極系が絶縁性の基板上にスクリーン印刷で形成されたカーボンを主体とする材料からなる特許請求の範囲第1項又は第2項記載のバイオ

センサ。

- (4) 蛋白質が、アルブミン又は酵素反応に用いられる酸化還元酵素の少くともいずれかである特許請求の範囲第1項記載のバイオセンサ。

3、発明の詳細な説明

産業上の利用分野

本発明は、種々の微量の生体試料中の特定成分について、試料液を希釈することなく迅速かつ簡易に定量することのできるバイオセンサに関する。

従来の技術

従来、血液などの生体試料中の特定成分について、試料液の希釈や攪拌などの操作を行うことなく高精度に定量する方式としては、第4図に示す様なバイオセンサが提案されている(例えば、特開昭59-166852号)。このバイオセンサは、絶縁基板9にリード12、13をそれぞれ有する白金などからなる測定極10および対極11を埋設し、これらの電極系の露出部分を酸化還元酵素および電子受容体を担持した多孔体14で覆ったものである。試料液を多孔体14上へ滴下す

ると、試料液中の多孔体中の酸化還元酵素と電子受容体が溶解し、試料液中の基質との間で酵素反応が進行し電子受容体が還元される。酵素反応終了後、この還元された電子受容体を電気化学的に酸化し、このとき得られる酸化電流値から試料液中の基質濃度を求める。

#### 発明が解決しようとする問題点

この様な従来の構成では、多孔体については、測定毎に取り替えることにより簡易に測定に供することができるが、電極系については洗浄等の操作が必要である。一方電極系をも含めて測定毎の使い棄てが可能となれば、測定操作上、極めて簡易になるものの、白金等の電極材料や構成等の面から、非常に高価なものにならざるを得ない。

本発明はこれらの点について種々検討の結果、電極系と多孔体を一体化することにより、生体試料中の特定成分を極めて容易に迅速かつ高精度に定量することのできる安価なディスポーザブルタイプのバイオセンサを提供するものである。

#### 問題点を解決するための手段

以下、本発明の一実施例について説明する。

バイオセンサの一例として、グルコースセンサについて説明する。第1図は、グルコースセンサの一実施例について示したもので、構成部分の分解図である。ポリエチレンテレフタレートからなる絶縁性の基板1に、スクリーン印刷により導電性カーボンペーストを印刷し、加熱乾燥することにより、対極2、測定極3、参照極4からなる電極系を形成する。次に、電極系を部分的に覆い、各々の電極の電気化学的に作用する部分となる2'、3'、4'(各1mm)を残す様に、絶縁性ペーストを前記同様印刷し、加熱処理して絶縁層5を形成する。

この電極系(2'、3'、4')の表面を被覆する様にアルブミンの50mg/ml水溶液を滴下し、5〜10分間放置し、次に、水洗し余分なアルブミンを除去した後、乾燥する。この操作により、各電極表面にアルブミンが吸着される。

次に穴を開けた樹脂製の保持枠6を絶縁層5に接合し、前記電極系2'、3'、4'を覆う様に多孔

本発明は上記問題点を解決するため、絶縁性の基板に少なくとも測定極と対極からなる電極系を設け、酵素と電子受容体と試料液を反応させ、前記反応に際しての物質濃度変化を電気化学的に前記電極系で検知し、試料液中の基質濃度を測定するバイオセンサにおいて、前記電極系の少なくとも測定極の表面に予め蛋白質を吸着させておき、酸化還元酵素および電子受容体を担持した多孔体で前記電極系を覆い、多孔体を前記電極系および前記基板とともに一体化したものである。

#### 作用

本発明によれば、電極系をも含めたディスポーザブルタイプのバイオセンサを構成することができ、試料液を多孔体に添加することにより、極めて容易に基質濃度を測定することができる。

しかも、電極系の表面に予め蛋白質を吸着しておくことにより、試料液中の蛋白質等の新たな吸着による測定値の変動がなくなり、精度がよく、再現性の良好な基質濃度の測定が可能となった。

#### 実施例

体7を穴の中に保持する。さらに多孔体より小さい径の開孔部を有する樹脂製カバー8を接合し、全体を一体化する。この一体化されたバイオセンサについて、測定極3に沿った断面図を第2図に示す。上記に用いた多孔体は、酸化還元酵素としてグルコースオキシダーゼ100mgと電子受容体としてフェリシアン化カリウム150mgをpH5.6のリン酸緩衝液1mlに溶解した液をナイロン不織布に含浸後、減圧乾燥して作製したものである。

上記の様に構成したグルコースセンサの多孔体へ試料液としてグルコース標準液を滴下し、滴下2分後に、参照極を基準にして測定極に700mVのパルス電圧を印加することによりアノード方向へ分極した。この場合、添加されたグルコースは多孔体に担持されたグルコースオキシダーゼの作用で、フェリシアン化カリウムと反応してフェロシアン化カリウムを生成する。そこで、上記のアノード方向へのパルス電圧の印加により、生成したフェロシアン化カリウム濃度に比例した酸化電

流が得られ、この電流値は基質であるグルコース濃度に対応する。

上記の構成による10個のグルコース測定用センサに約90 mg/dl のグルコースを含む血清サンプルを各々滴下し、2分後に700 mV のパルス電圧を印加し、印加10秒後の電流値を測定したところ第3図Aに示す様に良好な再現性を示した。一方、アルブミンの吸着処理を施さない電極系を用いて前記同様にグルコースセンサを構成し、Aと同様に測定した場合には第3図Bに示す様に、Aと比較して応答電流の変動は大であった。A、Bはいずれも各々同様に作製した10個のグルコースセンサについての応答を示したものであるが、この様な吸着処理による再現性の差異は、血清サンプル中の蛋白質等の吸着物質の吸着度の差異に起因するものと考えられる。Aに示すごとく、予め十分な吸着処理を施すことにより、この影響を防止することが出来るものと考えられる。

アルブミン以外に、グルコースオキシダーゼの水溶液100 mg/ml 水溶液を用いて、前記同様

の処理を施した場合も、再現性の良好な応答特性が得られた。

電極に吸着させる蛋白質としては、上記実施例に示したアルブミンやグルコースオキシダーゼに限定されることはない。また、電極系の中で、少なくとも測定極に対して吸着処理が施されておれば、上記同様の効果を有する。

電極系を形成する方法としてのスクリーン印刷は、均一な特性を有するディスポーザブルタイプのバイオセンサを安価に製造することができ、特に、価格が安く、しかも安定した電極材料であるカーボンを用いて電極を形成するのに好都合な方法である。

本発明のバイオセンサにおける一体化の方法としては、実施例に示した枠体、カバーなどの形や組み合わせに限定されるものではない。また、用いる多孔体としては、ナイロン不織布以外に、セルロース、レーヨン、セラミック、ポリカーボネート等からなる多孔体を単独、あるいは組み合わせで用いることができる。さらに酸化還元酵素と電

子受容体の組み合わせも前記実施例に限定されることはなく、本発明の主旨に合致するものであれば用いることができる。一方、上記実施例においては、電極系として3電極方式の場合について述べたが、対極と測定極からなる2電極方式でも測定は可能である。

#### 発明の効果

本発明のバイオセンサは、絶縁性の基板、電極系および酸化還元酵素と電子受容体を担持した多孔体を一体化することにより、極めて容易に生体試料中の基質濃度を測定することができ、さらに電極面に蛋白質を予め吸着させておくことにより、再現性を向上することができる。

#### 4、図面の簡単な説明

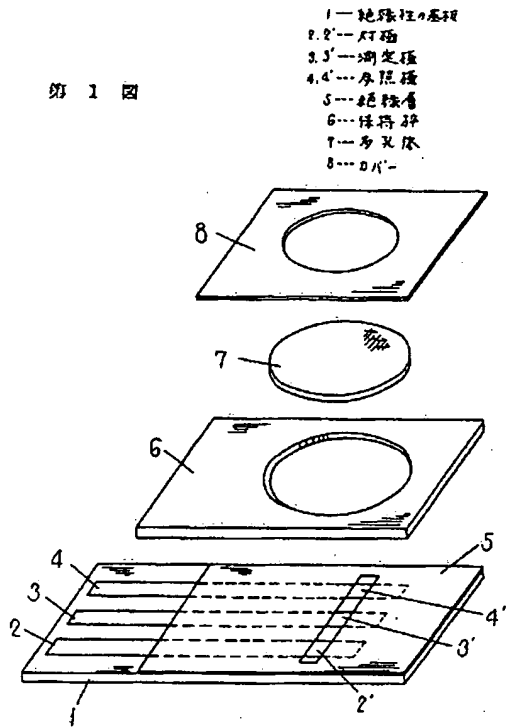
第1図は本発明の一実施例であるバイオセンサの分解斜視図、第2図はその縦断面図、第3図はバイオセンサの応答特性図、第4図は従来のバイオセンサの縦断面図である。

1 ……基板、2 ……対極、3 ……測定極、4 ……参照極、5 ……絶縁層、6 ……保持枠、7 ……

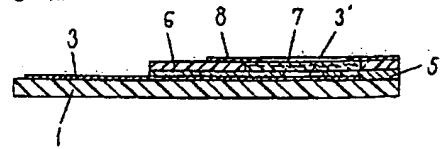
多孔体、8 ……カバー。

代理人の氏名 弁理士 中 尾 敏 男 ほか1名

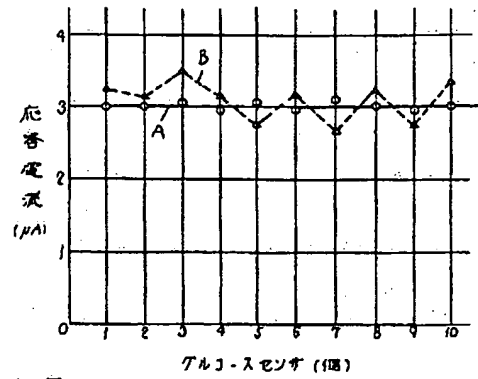
第 1 図



第 2 図



第 3 図



第 4 図

